

論文審査の結果の要旨および担当者	
学位申請者	山浦 鉄人
論文担当者	主査 丸茂 幹雄
	副査 都築 建三
	副査 岸本 裕充
学位論文名	<p>Laminin 332 regulates glial fibrillary acidic protein expression and astrocyte maturation during spinal cord development</p> <p>(ラミニン 332 は、脊髄発生過程においてグリア線維酸性タンパク質の発現とアストロサイトの成熟を調節する)</p>
論文審査の結果の要旨	
<p>発生期において脊髄白質は、中枢末梢の情報伝達を担う神経ネットワーク基盤として重要であるが、細胞外マトリックス (ECM) による環境調節の実態は十分解明されていない。申請者は、ECM の主要構成要素である laminin 群に着目し、とくに laminin 332 (= laminin <math>\alpha 3 \beta 3 \gamma 2</math>) による発生期脊髄白質形成への関与を明らかにすることを目的として検討を行った。</p> <p>脊髄白質予定領域である marginal zone において、免疫組織学的な解析ではマウス胎仔の胚齢 E12 および E14 で顕著な laminin <math>\alpha 3</math> の局在が認められ、E14 で <math>\beta 3</math> サブユニットの存在が確認された。RT-PCR および western blot では E14 で <math>\alpha 3 \cdot \beta 3 \cdot \gamma 2</math> の発現が確認された。また、E16 以降では発現が低下し、laminin 332 の作用は一定の発生時期に局限している可能性が示唆された。</p> <p>次に、laminin 332 と軸索との関係を検討するため、E14 脊髄に DiI を注入し軸索投射線維をラベリングした。ラベルされたニューロンが観察された同側前角、対側後角、脳幹において laminin <math>\alpha 3</math> mRNA が発現し、細胞体の乏しい marginal zone で laminin 332 が Tuj1 陽性軸索を取り囲むように局在していたことから、laminin 332 は発生期白質形成の微小環境を構築していると推測された。</p> <p>グリア細胞との関連を検討したところ、グリア線維酸性タンパク質 (GFAP) 陽性線維は E12 および E14 の marginal zone で laminin 332 陽性領域と一致して観察された。E16-18 では GFAP 陽性細胞が marginal zone に増加し、時期依存的にアストロサイトへの移行が進む過程が示唆された。</p> <p>そこで in vitro 解析として、アストロサイト前駆細胞株 OS3 を用い laminin 332 による影響を検討した。laminin 332 でコートした Dish 上では OS3 細胞は GFAP 発現を亢進し、同時に細胞増殖は抑制された。さらに、インテグリン受容体 <math>\alpha 6 \beta 4</math> 阻害により GFAP 誘導が抑制され、増殖抑制効果も解除された。したがって、laminin 332 は主としてインテグリン <math>\alpha 6 \beta 4</math> を介してアストロサイト成熟シグナルを伝達すると考えられる。また、同様の作用は E15 脊髄由来一次培養細胞でも確認され、laminin 332 が発生期脊髄において GFAP 発現上昇を誘導しうることが支持された。</p> <p>以上の結果より、laminin 332 は発生期マウス脊髄 E12-14 の marginal zone において軸索により供給・局在し、その微小環境内でアストロサイト前駆細胞に対し分化誘導 (GFAP 発現促進) と増殖抑制を与える役割を担うことが明らかとなった。</p> <p>本研究は当該分野の問題点の検討に有意義な研究であり、学位に値すると評価した。</p>	